

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Michaela Kozłowskiego pt.: „*The effects of morphine and analgesic adjuvants on innate and humoral immune response parameters in mice. The role of macrophages*”

Streszczenie.

Wstęp. Makrofagi są wszechstronną grupą komórek fagocytarnych odpowiedzialnych za wypełnianie różnych funkcji immunologicznych, w szczególności za aktywację wrodzonej odpowiedzi przeciwbakteryjnej i usuwanie resztek komórkowych i ciał apoptotycznych. Odgrywają one ważną rolę we wrodzonej odporności, ponieważ są zdolne do aktywacji i promowania ostrego zapalenia przeciwko patogenowi lub do zahamowania odpowiedzi immunologicznej przeciwko autoantygenom. Ponadto makrofagi działają jako komórki prezentujące antygen i komórki efektorowe, pomagając w indukowaniu antygenowo-swoistej humoralnej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej.

Materiały i Metody. Makrofagi od myszy leczonych morfiną z lub bez adiuwantu przeciwbólowego (gabapentyna, amitryptylina lub wenlafaksyna) lub od myszy leczonych wyłącznie lekiem przeciwdepresyjnym (imipramina, fluoksetyna lub moklobemid), albo poddano testom chemiluminescencji w celu pomiaru syntezy reaktywnych form tlenu reaktywnemu, poddano hodowli by w nadsączach oceniać wytwarzanie cytokin lub też poddawano fagocytozie antygenów erytrocytów barana albo też znakowano haptenem i w przenoszono w transferze adoptywnym do biorców naiwnych, aby odpowiednio indukować odpowiedź humoralną lub komórkową. Aktywna nadwrażliwość kontaktowa była również wywoływana u myszy leczonych lekami. Test fagocytozy przeprowadzono w przypadku myszy leczonych morfiną z, albo bez gabapentyny, amitryptyliny lub wenlafaksyny. Test oznaczenia rodników tlenowych przeprowadzono również w hodowlach makrofagów od myszy leczonych wcześniej nie badanymi opioidami: oksykodonem i buprenorfiną.

Wyniki. Zaobserwowano, że wielokrotnie podawana morfina i adiuwanty przeciwbólowe zmniejszały fagocytozę antygeny przez makrofagi. Adiuwanty przeciwbólowe, z wyjątkiem imipraminy, miały tendencję do zmniejszania wytwarzania reaktywnych związków tlenu i tlenku azotu, przy czym największy wpływ wykazywała amitryptylina. Ponadto amitryptylina z morfiną zwiększała podstawową sekrecję cytokin przez makrofagi a wszystkie adiuwanty przeciwbólowe, fluoksetyna i moklobemid, powodowały zmniejszenie stymulowanego LPS uwalniania cytokin prozapalnych. Morfina i adiuwanty przeciwbólowe wpłynęły na zahamowanie fagocytozy i ekspresji markerów prezentacji antygenów na makrofagach, co doprowadziło do zmniejszenia zdolności makrofagów traktowanych morfiną do aktywacji procesu prezentacji antygeny krwinek barana i zmniejszenia wydzielania przez limfocyty B antygenowo-swoistych przeciwciał, a dodanie AA wzmocniło ten efekt. Wreszcie gabapentyna, wenlafaksyna i imipramina tłumili reakcję nadwrażliwości kontaktowej, podczas gdy amitryptylina aktywowała tą reakcję.

Wnioski. Przedstawione badania wykazały znaczącą aktywność przeciwwzapalną adiuwantów przeciwbólowych w szerokim spektrum funkcji immunologicznych makrofagów, co jest prawdopodobnie krytyczne dla ich działania przeciwbólowego wspierającego korzystne oddziaływanie morfiny.

The following articles create this doctoral dissertation:

1. Nazimek K, **Kozłowski M**, Bryniarski P, Strobel S, Bryk A, Myszka M, Tyszka A, Kuzmiersz P, Nowakowski J, Filipczak-Bryniarska I.: Repeatedly administered antidepressant drugs modulate humoral and cellular immune response in mice through action on macrophages. *Exp Biol Med* (Maywood). 2016 Aug;241(14):1540-50. <https://doi.org/10.1177/1535370216643769> .Epub 2016 Apr 5. PMID:27053354 (IF=2.688, pkt. MNiSW=25) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27053354>

2. **Kozłowski M**, Nazimek K, Wasik M, Filipczak-Bryniarska I, Bryniarski K.: The impact of advanced opioid drugs and analgesic adjuvants on murine macrophage oxygen burst. *Folia Med Cracov.* 2017;57(2):15-30. (IF=0, pkt MNiSW =10)
PMID:29121034.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29121034>

3. **Kozłowski M**, Nazimek K, Nowak B, Filipczak-Bryniarska I, Bryniarski K.: Analgesic adjuvants modulate morphine-induced immune effects in mice, *Pharmacological Reports* (2019)in press (IF=2.787, pkt MNiSW =25) <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.04.016>

This doctoral thesis has a total value of IF=5.431 and 60 MNiSW points.

Introduction

Macrophages are a versatile group of phagocytic cells responsible for fulfilling a variety of immune functions, most notably for mounting the initial anti-microbial response and for the clearance of cellular debris and apoptotic bodies [1]. Thus, macrophages play an important role in innate immunity, as they are able either to activate and promote acute inflammation against pathogen or to counteract immune response against self-antigens. Additionally, macrophages function as antigen presenting and effector cells, helping to induce the adaptive, humoral, and cellular immune response [2]. Due to their ability to release various pro and anti-inflammatory mediators, macrophages also contribute to the orchestration and regulation of immune mechanisms, and their cytotoxic activation is observed in delayed-type hypersensitivity, including the cutaneous contact sensitivity reaction. The key processes for fulfilling this variety of functions include the production of reactive oxygen intermediates and nitric oxide [1]. It is also notable that macrophages express a variety of cell-membrane-associated and intracellular receptors, including opioid, serotonin, and norepinephrine receptors [3,4]. Thus, these cells can react to numerous signaling molecules, including cytokines, hormones, neurotransmitters and bioactive compounds of different medications.

According to the International Association for the Study of Pain, pain is defined as an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage [5]. In palliative care, pain is one of the most commonly occurring and clinically important symptoms, occurring in up to 80% of patients with advanced cancer [6]. In these patients, pain can be difficult to effectively treat due to its often complex etiology. Administration of strong opioids is the mainstay of pain treatment in patients with advanced cancer, with opioid titration being a common procedure in the management of unrelieved pain. However, opioid drug treatment in the setting of neuropathic pain is significantly less effective, since their analgesic action appears later than exerted severe adverse effects. Accordingly, the use of analgesic adjuvants should be considered for the alleviation of uncontrolled pain, especially of a neuropathic nature and for mitigation of opioid-induced hyperalgesia, which can occur after titration with strong opioids [6,7]. Analgesic adjuvants are drugs, which are not expressly indicated to treat pain, but have been found to be useful in certain clinical situations, such as in the treatment of neuropathic pain [6]. Analgesic properties of opioids, but also analgesic adjuvants, depend on their direct influence on function of immune cells, among other things [8,9]. While the analgesic efficacy of opioids and analgesic adjuvants is well established, much remains to be elucidated about their effects on the immune system.

Aims of Research

- How do morphine and analgesic adjuvants affect the innate and adaptive humoral immune response in murine macrophages?
- How does the addition of an analgesic adjuvant modulate the effects of morphine on murine macrophages?